

EFEITO DO ALOPURINOL E TERAPIA COM OXIGÊNIO HIPERBÁRICO EM MODELO DE REIMPLANTE DE MEMBRO APÓS ISQUEMIA QUENTE EM RATOS

EFFECT OF ALLOPURINOL AND HYPERBARIC OXYGEN THERAPY IN A LIMB REPLANTATION MODEL AFTER WARM ISCHEMIA IN RATS

Marcelo Sacramento Cunha, TCBC-BA¹; José Carlos Faes da Silva²;
Hugo Nakamoto³; Danielle Tiemi Simão⁴; Marcus Castro Ferreira, ECBC-SP⁵

RESUMO: Objetivo: A isquemia prolongada leva a alterações na microcirculação tecidual e liberação de radicais livres do oxigênio conhecidas como fenômeno de não reperfusão. Foi testado um modelo experimental de replante de membro após isquemia quente e os efeitos do fármaco alopurinol e da terapia com oxigênio hiperbárico. **Método:** Foram realizadas amputações com preservação dos vasos e nervos dos membros posteriores direitos em 95 ratos. Os grupos modelos M1, M2, M3, M4 e M5 foram submetidos à isquemia quente de 0, 2, 4, 6 e 8 horas. As taxas de viabilidade dos membros isquêmicos após sete dias de avaliação foram 100%, 80%, 63,6%, 50% e 20%. Os grupos experimentais E1 e E2 foram tratados, respectivamente, com alopurinol e terapia com oxigênio hiperbárico após isquemia de 6 horas. As taxas de viabilidade foram 70% e 30%. Os resultados foram analisados estatisticamente pelo teste do Qui-quadrado. **Resultados:** Os grupos M1, M2, M3, M4 e M5 foram estatisticamente diferentes entre si exceto os grupos M3 e M4. E1 resultou em uma viabilidade de membros maior que M4 e E2 resultou em uma viabilidade de membros menor que M4 (resultados estatisticamente significantes). **Conclusões:** Os resultados sugerem que a administração do alopurinol após isquemia do membro por 6 horas aumenta a taxa de viabilidade dos membros isquêmicos, e a terapia com oxigênio hiperbárico diminuiu a viabilidade dos membros isquêmicos (*Rev. Col. Bras. Cir.* 2005; 32(2): 64-68).

Descritores: Ratos Wistar; Reimplante; Isquemia; Reperfusão; Alopurinol; Oxigênio.

INTRODUÇÃO

A viabilidade e resultado funcional final dos reimplantes de membro dependem da prevenção de efeitos deletérios da anóxia. Os tecidos do membro a ser reimplantado têm diferentes resistências diante da anóxia. O músculo esquelético é menos tolerante à isquemia e suas consequências anatômicas, metabólicas e fisiopatológicas foram bem estudadas¹⁻⁴. A busca da melhor viabilidade dos membros levou diversos autores a desenvolverem vários modelos de perfusão de membro com fármacos anticoagulantes e hipotermia².

Além da patência das anastomoses vasculares, a circulação distal e periférica é igualmente importante para a viabilidade de membros reimplantados. A isquemia leva à obstrução do fluxo sanguíneo para tecidos periféricos, o que é conhecido como fenômeno de não reperfusão. Esta obstrução tem caráter progressivo com formação de trombos na microcirculação, agregação plaquetária, edema celular e edema tecidual. A progressão deste fenômeno leva à irreversibilidade das lesões e inviabilidade do membro³.

Os radicais livres do oxigênio têm importante papel na patogênese da lesão tecidual após isquemia e reperfusão. Resultados promissores foram obtidos com o uso de agentes antioxidantes em diferentes tecidos isquêmicos. Estes resul-

tados sugerem um benefício na prevenção dos efeitos da isquemia tecidual^{5,6}.

A terapia com oxigênio hiperbárico tem sido indicada para tratamento de uma série de situações clínicas. A utilização da terapia com oxigênio hiperbárico em retalhos isquêmicos, enxertos compostos e na preservação de membros antes do replante foram estudadas, com resultados conflitantes para retalhos isquêmicos e muito animadores para enxertos compostos e preservação de membros isquêmicos⁶⁻¹¹.

Existem várias evidências que apontam o efeito benéfico de fármacos antioxidantes e terapia com oxigênio hiperbárico em situações de isquemia, porém faltam trabalhos conclusivos para que estes fármacos e a terapia com oxigênio hiperbárico sejam utilizados na prática clínica dos reimplantes.

O presente trabalho pretende testar um modelo de replante de membro após isquemia quente em ratos e o efeito da administração do fármaco antioxidante alopurinol e da terapia com oxigênio hiperbárico neste modelo.

MÉTODO

Foram utilizados 95 ratos Wistar machos com peso variando entre 290 e 400g. Os animais foram mantidos em biotério, acondicionados em gaiolas individuais, alimentados com ração (Nuvilab CR1 – Nuvital Nutrientes LTDA.) e água

1. Professor Doutor da Disciplina de Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina da UFBA.

2. Médico Residente da Disciplina de Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina da USP.

3. Médico preceptor da Disciplina de Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina da USP.

4. Acadêmica de Medicina da USP.

5. Professor Titular da Disciplina de Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina da USP.

Recebido em 27/10/2004

Aceito para publicação em 24/01/2005

Trabalho realizado no Laboratório de Microcirurgia da Disciplina de Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

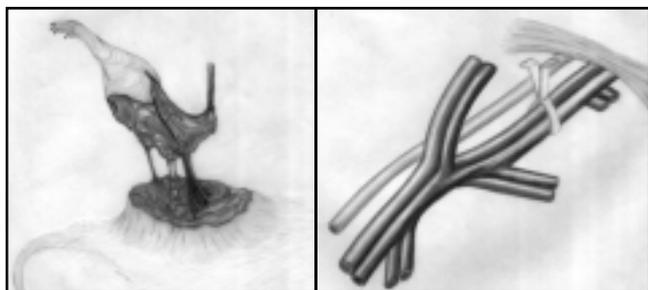


Figura 1 - Membro posterior amputado, preservando-se o feixe vásculo-nervoso; Posicionamento do clampe vascular nos vasos femorais.

filtrada *ad libitum*, período claro/escuro de 12/12 horas e temperatura ambiente de 23° C.

Os animais foram anestesiados com administração intraperitoneal de tiopental sódico (50mg/Kg) e foi realizada incisão vertical em região inguinal direita com dissecação sob microscópio cirúrgico do feixe vásculo-nervoso femoral. Realizou-se incisão circular na porção média da coxa em toda a circunferência da pele e musculatura, mantendo o nervo ciático íntegro¹². Após hemostasia com eletrocautério foi realizada a osteotomia do fêmur em terço médio com serra manual, mantendo o feixe vásculo-nervoso protegido por pequeno segmento de látex. Procedeu-se à síntese óssea com fixação intramedular do fêmur com segmento de 2cm de agulha 30X7 e cola instantânea de éster de cianoacrilato. Realizou-se a síntese da musculatura e o clipe microvascular foi posicionado nos vasos femorais antes da emergência dos vasos epigástricos superficiais caudais, evitando a inclusão do nervo femoral. A interrupção dos fluxos arterial e venoso dos vasos femorais foi assegurada através do teste de enchimento negativo. Após a síntese da pele foi realizada reposição volêmica (50ml/Kg de solução fisiológica 0,9% via subcutânea) (Figura 1).

Os animais foram submetidos a tempos de isquemia quente (temperatura ambiente 25°C) a partir do pinçamento dos vasos. Após o período de isquemia, os ratos foram anestesiados (tiopental 10mg/Kg via intraperitoneal), uma incisão vertical em região inguinal esquerda foi realizada com dissecação dos vasos femorais e canulação (agulha 29G) da veia epigástrica superficial caudal com injeção de soluções (soro fisiológico ou alopurinol) com volume total de 1ml. A sutura vertical do membro posterior direito foi aberta e o clipe vascular retirado. A patência dos vasos femorais e a ausência de trombos foram ratificadas (teste de enchimento positivo). Procedeu-se então à síntese da pele das incisões e o acondicionados dos animais em gaiolas individuais.

Os animais foram divididos em grupos modelos e experimentais. Os cinco grupos modelos, com 10 a 11 ratos cada, foram submetidos a tempos de isquemia de 0, 2, 4, 6 e 8 horas. O grupo modelo 4 (M4) foi utilizado como controle dos grupos experimentais (Tabela 1).

Os animais do grupo experimental 1 (E1) receberam a administração intravenosa de solução de alopurinol 45 mg/Kg¹³ (Allopurinol[®] - Sigma-Aldrich), imediatamente antes ao início da reperfusão do membro.

Os animais do grupo experimental 2 (E2) foram submetidos à terapia com oxigênio hiperbárico (TOH). Foram rea-

lizadas seis sessões de 30 minutos com oxigênio a 100% a 2,5 ATM, períodos de compressão e descompressão de 5 minutos e intervalos de 12 horas entre as sessões, em câmara hiperbárica modelo Seecrhist em até 1 hora após a reperfusão⁵ (Tabela 2).

Os animais foram excluídos do estudo quando evoluíram para óbito durante o procedimento cirúrgico (nove ratos), ou antes, do sétimo dia de pós-operatório (oito ratos), trombose arterial após retirada do clipe vascular (três ratos), trombose venosa após retirada do clipe vascular (dois ratos), clipe vascular não funcionando (um rato) e extravasamento na injeção de drogas (um rato).

Os animais foram observados diariamente por um período de sete dias. A viabilidade dos membros foi determinada através de exame clínico e os membros foram classificados como membros viáveis quando havia sobrevivência total do membro ou sobrevivência total e presença de necrose parcial apenas de pele próximo à sutura com presença de músculo viável subjacente e crescimento de pelos, ou membros não viáveis pela necrose total do membro.

Os resultados foram transformados em porcentagem de viabilidade do membro por grupo, comparados entre si e analisados estatisticamente pelo teste do Qui-quadrado com nível de significância adotado de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

O grupo M1 foi submetido à 0 hora de isquemia e foi observado 100% (10/10) de viabilidade dos membros. O grupo M2 evoluiu com uma taxa de viabilidade dos membros de 80% (8/10), o grupo M3 evoluiu com 63,6% (7/11) de viabilidade dos membros, o grupo M4 evoluiu com 50% (5/10) de viabilidade dos membros e o grupo M5 evoluiu com 20% (2/10) de viabilidade dos membros. Os grupos M1 e M2, M2 e M3, M3 e M5, M4 e M5 foram diferentes estatisticamente com $p < 0,05$. Os grupos M3 e M4 não foram diferentes estatisticamente (Gráfico 1).

Tabela 1 – Grupos Modelos. Tempos de isquemia que foram submetidos os grupos e número de animais por grupo.

Grupos Modelos	Tempo de isquemia	No. de animais
M1	0h	10
M2	2h	10
M3	4h	11
M4	6h	10
M5	8h	10

Tabela 2 – Grupos Experimentais. Número de animais por grupo e tratamento utilizado após isquemia de 6 horas.

Grupos Experimentais (GE)	Tempo de isquemia	Nº de animais	Tratamento
GE1	6h	10	Alopurinol
GE2	6h	10	TOH*

* Terapia com oxigênio hiperbárico.

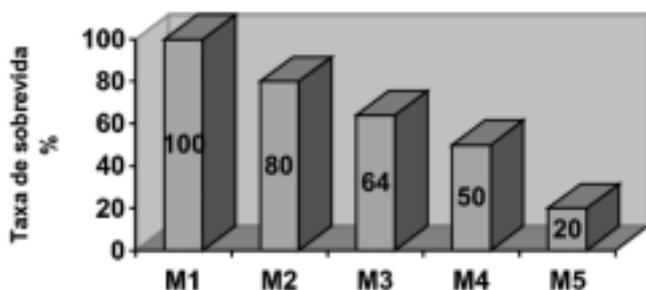


Gráfico 1 - Taxa de viabilidade dos membros reimplantados após sete dias nos grupos modelos;

M1 – 0 horas de isquemia, M2 – 2 horas de isquemia, M3 – 4 horas de isquemia, M4 – 6 horas de isquemia, M5 – 6 horas de isquemia.

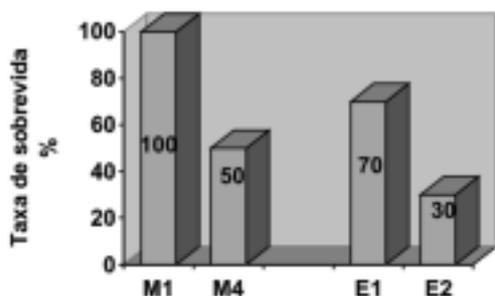


Gráfico 2 - Taxa de viabilidade dos membros reimplantados após sete dias nos grupos: **M1** - sem isquemia (0 horas de isquemia), **M4** - grupo controle (6 horas de isquemia), **E1** - tratamento com alopurinol após isquemia de 6 horas, **E2** - Terapia com oxigênio hiperbárico após isquemia de 6 horas. (todos os grupos diferentes estatisticamente $p < 0,05$)

O grupo E1 (alopurinol) evoluiu com taxa de viabilidade dos membros de 70% (7/10) e foi diferente estatisticamente dos grupos M1, M4, M5 ($p < 0,05$). Não foi observada diferença estatística entre os grupos E1 e M2, E1 e M3. O grupo E2 (câmara hiperbárica) evoluiu com taxa de viabilidade dos membros de 30% (3/10) e foi diferente estatisticamente dos grupos M1, M2, M3, M4 ($p < 0,05$). Não foi diferente estatisticamente do grupo M5 (Gráfico 2).

Não foi observada autofagia em nenhum membro viável, porém foi observada na maioria dos membros não viáveis. A autofagia ocorreu a partir do 4^o dia de pós-operatório após a necrose total do membro.

DISCUSSÃO

Várias causas para o fenômeno de não reperfusão têm sido propostas. Ames *et al*¹³ em 1968 foram os primeiros autores a descreverem o fenômeno de não reperfusão, observando áreas de não reperfusão cerebral e atribuíram estas áreas à obstrução arterial secundária a edema de células endoteliais. Miller *et al*¹⁴ observaram que “shunts” arteriovenosos ocorriam em extremidades reimplantadas e isto poderia contribuir para áreas de pouca perfusão, além da estase, perda de fluido intravascular, meio ácido e exposição do colágeno da subintima que poderiam levar a trombose após o reimplante¹⁵⁻¹⁷. Múltiplos fatores responsáveis pelo fenômeno da não reperfusão foram agrupados em três grupos: isquemia, lesão da íntima vascular e respostas sistêmicas e

locais¹⁸. Esta tríade da não reperfusão interage entre si levando a alterações histológicas e metabólicas na microcirculação: constricção de arteríolas, edema endotelial e leucocitário, estase regional, adesão e migração de leucócitos, hemorragia focal, agregação plaquetária, produção de radicais livres do oxigênio e ácidos^{3,19}.

Vários modelos têm sido utilizados e desenvolvidos para estudo deste fenômeno. Membros posteriores de gatos submetidos à isquemia de 6 horas por torniquete evoluíram para necrose em 33% e 100% quando submetidos a períodos maiores de isquemia¹⁷.

Zdeblick *et al*²⁰ em 1985, estudaram o reimplante de membros posteriores de ratos após tempos de isquemia variados e observaram que a viabilidade do membro após a isquemia era do tipo tudo ou nada^{20,21}. Após 2 e 3 horas de isquemia a viabilidade foi de 100%, após 4 horas foi de 50% e após 6 horas foi de 20%. Os membros eram submetidos à isquemia quente de 5 horas e a taxa de viabilidade dos membros foi de 50%. Concannon *et al*¹² em 1991 obtiveram taxa de viabilidade de 30% em membros posteriores de ratos submetidos à isquemia quente de 6 horas e esta resposta era do tipo tudo ou nada. Yokoyama *et al*²² em 2000 estudaram modelos de reimplante de membro isquêmico e isquemia muscular isolada e propuseram estes modelos para estudo da formação de radicais livres após reperfusão. Olivas *et al*²³ em 2001 estudou isquemia do músculo cremáster de ratos e observou que 7 e 8 horas de isquemia é o tempo limite para reversibilidade das lesões por isquemia e reperfusão em músculos.

O presente trabalho testou um modelo de reimplante de membro posterior de ratos após isquemia quente para estudar isquemia e reperfusão. A manutenção do pedículo vascular evitou anastomoses microvasculares e uma nova variável para o estudo da isquemia. A manutenção dos nervos evitou a perda de sensibilidade e autofagia do membro, não sendo observado nenhum caso de autofagia nos membros viáveis.

Os radicais superóxido e hidroxila, metabólitos reativos do oxigênio são formados em situações de isquemia e reperfusão e podem causar lesão na membrana celular diretamente através da peroxidação lipídica ou através da degradação do colágeno intracelular. Estes radicais livres derivados do oxigênio podem desempenhar um importante papel na etiologia microvascular do fenômeno da não reperfusão através da lesão citotóxica direta no endotélio vascular^{3,24}.

O alopurinol atua como inibidor da enzima xantina oxidase, que exerce importante papel na formação de radicais livres durante a reperfusão, não permitindo a conversão das hipoxantinas derivadas do ATP em ácido úrico, reação onde o O_2 é transformado em O_2^- .

Os efeitos benéficos do alopurinol e outros agentes antioxidantes foram bem documentados em modelos de isquemia e reperfusão de retalhos fáciocutâneos em ratos e porcos^{6,25-27}. Em isquemia de membros foi observada uma taxa de viabilidade de 60% em membros isquêmicos de ratos por 6 horas e administração de alopurinol¹², e observada redução na pressão compartimental de membros amputados em ratos com isquemia de tempos variados e administração de alopurinol²⁷. Ablove *et al*²⁸ relataram melhora na taxa de viabilidade de membros isquêmicos amputados de ratos após uso

da superóxido dismutase e melhora na patência vascular e sobrevivência de células musculares e ósseas após um modelo de replante isquêmico e administração de superóxido dismutase.

No presente estudo, o grupo E1 foi tratado com alopurinol intravenoso na dose de 45mg/Kg¹². A taxa de viabilidade dos membros no grupo E1 de 70% foi significativamente maior que do M4, sugerindo uma melhora na viabilidade dos membros isquêmicos com utilização do alopurinol. A taxa de viabilidade dos membros de E1 foi significativamente maior que a do grupo M5 e significativamente menor que a do grupo M1, porém não foi diferente da taxa de sobrevivência dos grupos M2 e M3. Este dado sugere que os membros com isquemia de 6 horas e que receberam alopurinol evoluíram com taxa de viabilidade semelhante aos membros submetidos à isquemia de 2 e 4 horas.

Existem várias hipóteses para o mecanismo de ação da terapia com oxigênio hiperbárico¹¹, sendo a principal, a neoformação capilar no tecido isquêmico^{6,7}. A proliferação de capilares no retalho observado através de microangiografia pode ser efeito secundário à vasoconstrição⁸ promovida pelo oxigênio hiperbárico. Outro mecanismo de ação seria consequência do seqüestro de neutrófilos para o tecido pulmonar, já que estas células são conhecidas fonte de radicais livres do oxigênio e atuam como mediadores de eventos biológicos responsáveis pela lesão tecidual durante a reperfusão^{7,8,9}.

Alguns estudos experimentais demonstraram melhora na sobrevivência de retalhos cutâneos isquêmicos⁶, enquanto outros não obtiveram resultados positivos na melhora da sobrevivência de retalhos isquêmicos.⁹

No presente estudo foram utilizadas seis sessões de terapia com oxigênio hiperbárico nas primeiras 72 horas do período pós-operatório, com intervalo de 12 horas entre as sessões⁶. A taxa de viabilidade dos membros isquêmicos por 6 horas e que foram submetidos à terapia com oxigênio hiperbárico (E2) foi de 30%. Esta taxa foi significativamente

menor que a taxa encontrada para o M4. Este resultado sugere uma piora na taxa de viabilidade dos membros isquêmicos após a terapia com o oxigênio hiperbárico. A taxa de viabilidade do grupo E2 também foi significativamente menor que as taxas dos grupos M1, M2 e M3, porém não foi diferente da taxa do M5. Este resultado sugere que os membros submetidos à isquemia de 6 horas e terapia com oxigênio hiperbárico evoluíram com taxa de viabilidade semelhante aos membros submetidos a 8 horas de isquemia.

O resultado obtido, talvez se deva à grande quantidade de músculo isquêmico presente no modelo proposto, que na presença do oxigênio hiperbárico e conseqüentemente vasoconstrição da artéria femoral por maior disponibilidade do O₂, resulta em maior isquemia muscular e liberação de radicais livres do oxigênio. O mesmo provavelmente não ocorre em estudos que utilizaram retalhos cutâneos e por não possuírem músculo, suportaram um período isquêmico maior e com efeitos menos intensos na reperfusão.

O modelo de replante de membro em ratos após isquemia quente proposto se presta a estudos de isquemia e reperfusão com resposta do tipo tudo ou nada, é simples e com baixos índices de complicação e mortalidade, apresentando uma curva de viabilidade dos membros após tempos progressivamente maiores de isquemia. O tempo de isquemia de 6 horas, escolhido como controle dos grupos experimentais por apresentar uma viabilidade de 50% dos membros, se mostrou adequado para avaliação de efeitos positivos e negativos das terapias posteriormente aplicadas.

A terapia com o fármaco alopurinol após 6 horas de isquemia, apresentou uma melhora na taxa de viabilidade dos membros isquêmicos de 50% para 70%, demonstrando um efeito positivo nesta situação. Já a terapia com oxigênio hiperbárico nas mesmas condições, levou a uma piora na taxa de viabilidade dos membros isquêmicos de 50% para 30%, mostrando uma evolução negativa dos membros reimplantados após isquemia de 6 horas.

ABSTRACT

Background: Prolonged ischemia leads to alterations in tissue microcirculation and oxygen free radicals production. This event is called no reflow phenomenon and its management is a challenge to the surgeon dealing with replantation. It was tested a replantation model after warm ischemia in rats and the effectiveness of allopurinol and hyperbaric oxygen therapy. **Methods:** Amputation with preservation of vessels and nerves of the right hind limb was proceeded in 95 rats. The groups M1, M2, M3, M4 and M5 were submitted to 0, 2, 4, 6 and 8 hours of ischemia. The limbs were observed for seven days and the survival limb rates in each group were 100%, 80%, 63,6%, 50% and 20% respectively. M4 was elected control for experimental groups. The groups E1 and E2 were submitted to 6 hours of ischemia and were treated with allopurinol and hyperbaric oxygen therapy. The survival limb rates were 70% and 30% respectively. **Results:** M1, M2, M3, M4 and M5 were statistically different except for M3 and M4. E1 had a better limb survival than M4. E2 had a worse limb survival than M4. **Conclusions:** Our results suggest that the administration of allopurinol may be helpful to improve limb salvage after ischemia and hyperbaric oxygen therapy may not be helpful and even can be harmful to ischemic limbs.

Key-words: Rats, Wistar; Replantation; Ischemia; Reperfusion; Allopurinol; Oxigen.

REFERÊNCIAS

1. Tsai T, Jupiter JB, Serratori F, et al. - The effect of hypothermia and tissue perfusion on extended myocutaneous flap viability. *Plast Reconstr Surg.* 1982, 70(4):444-452.
2. Ferreira MC, Leão PP - Reimplante experimental de membro com microcirurgia vascular. *Rev Assoc Med Bras.* 1977, 23(1):3-6.
3. Siemionow M, Arslan E - Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery.* 2004, 24(6):468-475.

4. Khiabani KT, Kerigan CL – Differing flow patterns between ischemically challenged flap skin and skeletal muscle: implications for salvage regimens. *Plast Reconstr Surg.* 2002, 109(1):220-227
5. Carroll WR, Esclamado RM – Ischemia/reperfusion injury in microvascular surgery. *Head Neck.* 2000, 22(7):700-713.
6. Prada FS, Arrunategui G, Alves MC, et al. - Effect of allopurinol, superoxide-dismutase, and hyperbaric oxygen on flap survival. *Microsurgery.* 2002, 22(8):352-360.
7. Zamboni WA, Roth AC, Russel RC, et al. - The effect of acute hyperbaric oxygen therapy on axial pattern skin flap survival when administered during and after total ischemia. *J Reconstr Microsurg.* 1989, 5(4):344-348; discussion 349-350.
8. Ramon Y, Abramovich A, Shupak A, et al. - Effect of hyperbaric oxygen on a rat transverse rectus abdominis myocutaneous flap model. *Plast Reconstr Surg.* 1998, 102(2):416-422.
9. Caffee HH, Gallagher TJ - Experiments on the effects of hyperbaric oxygen on flap survival in the pig. *Plast Reconstr Surg.* 1988, 81(5):751-754.
10. Zimmel NJ, Amis LR, Sheppard FR, et al. - A temporal analysis of the effects of pressurized oxygen (HBO) on the pH of amputated muscle tissue. *Ann Plast Surg.* 1998, 40(6):624-629.
11. Zhang F, Cheng C, Gerlach T, et al. - Effect of hyperbaric oxygen on survival of the composite ear graft in rats. *Ann Plast Surg.* 1998, 41(5):530-534.
12. Concannon MJ, Dooley TW, Puckett CL - Improved survival in a replantation model containing ischemic muscle. *Microsurgery.* 1991, 12(1):18-22.
13. Ames A, Wright RL, Kowada M, et al. - Cerebral ischemia. II. The no-reflow phenomenon. *Am J Pathol.* 1968, 52(2):437-453.
14. Miller SH, Lung RJ, Graham WP, et al. - The acute effects of tourniquet ischemia on tissue and blood gas tensions in the primate limb. *J Hand Surg [Am].* 1978, 3(1):11-20.
15. Chait LA, May JW, O'Brien BM, et al. - The effects of perfusion of various solutions of the no-reflow phenomenon in experimental free flaps. *Plast Reconstr Surg.* 1978, 61(3):421-430.
16. May JW, Chait LA, O'Brien BM, et al. - The no-reflow phenomenon in experimental free flaps. *Plast Reconstr Surg.* 1978, 61(2):256-267.
17. Eriksson E, Anderson WA, Replogle RL - Effects of prolonged ischemia on muscle microcirculation in the cat. *Surg Forum.* 1974, 25(0):254-255.
18. Urbaniak JR, Seaber AV, Chen LE - Assessment of ischemia and reperfusion injury. *Clin Orthop Relat Res.* 1997, (334):30-36.
19. al-Qattan MM - Ischaemia-reperfusion injury. Implications for the hand surgeon. *J Hand Surg [Br].* 1998; 23(5):570-573.
20. Zdeblick TA, Shaffer JW, Field GA - An ischemia-induced model of revascularization failure of replanted limbs. *J Hand Surg [Am].* 1985, 10(1):125-131.
21. Edwards RJ, Im MJ, Hoopes JE - Effects of hyperbaric oxygen preservation on rat limb replantation: a preliminary report. *Ann Plast Surg.* 1991, 27(1):31-35.
22. Yokoyama K, Nakamura K, Saita Y, et al. - Time course of superoxide anion radicals generation in two ischemia-reperfusion models: comparison between hindlimb replant model and isolated rectus femoris muscle model. *Br J Plast Surg.* 2000, 53(6):516-519.
23. Olivas TP, Saylor TF, Wong HP, et al. - Timing of microcirculatory injury from ischemia reperfusion. *Plast Reconstr Surg.* 2001, 107(3):785-788.
24. Rees R, Smith D, Li TD, et al. - The role of xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase in skin ischemia. *J Surg Res.* 1994, 56(2):162-167.
25. Suzuki S, Matsushita Y, Isshiki N, et al. - Salvage of distal flap necrosis by topical superoxide dismutase. *Ann Plast Surg.* 1991, 27(3):253-257.
26. Tamir G, Yaffe B, Pri-Chen S, et al. - The effect of allopurinol on experimental island skin flap survival under prolonged periods of arterial ischaemia. *Br J Plast Surg.* 1994, 47(3):155-157.
27. Ferrari RP, Battiston B, Brunelli G, et al. - The role of allopurinol in preventing oxygen free radical injury to skeletal muscle and endothelial cells after ischemia-reperfusion. *J Reconstr Microsurg.* 1996, 12(7):447-450.
28. Ablove RH, Moy OJ, Peimer CA, et al. - Effect of high-energy phosphates and free radical scavengers on replant survival in an ischemic extremity model. *Microsurgery.* 1996, 17(9):481-486.

Endereço para correspondência:

José Carlos Faes da Silva
Av. Jacutinga, 635 – apto. 12
04515-030 – São Paulo - SP